



Synthetic and structure-activity relationship studies of cytotoxic marine natural products, aplyronine A and swinhoeisterol A

| | |
|----------|---|
| 著者（英） | Atsuhiro TAKANO |
| 内容記述 | この博士論文は内容の要約のみの公開（または一部非公開）になっています |
| year | 2019 |
| その他のタイトル | 海洋生物由来の細胞毒性化合物アプリロニンA とスウィンホエイステロールA に関する合成と構造活性相関研究 |
| 学位授与大学 | 筑波大学 (University of Tsukuba) |
| 学位授与年度 | 2018 |
| 報告番号 | 12102甲第8945号 |
| URL | http://hdl.handle.net/2241/00156562 |

専攻名 化学
 学籍番号 201530082
 学生氏名 高野敦弘
 学位名 博士(理学)
 指導教員 木越英夫

博士論文題目：Synthetic and structure-activity relationship studies of cytotoxic marine natural products, aplyronine A and swinhoeisterol A
 (海洋生物由来の細胞毒性化合物アプリロニン A とスウィンホエイステロール A に関する合成と構造活性相関研究)

Chapter 1. General introduction

Chapter 2. Structure-activity relationship study of aplyronine A by hybridization with swinholide A

Chapter 3. Synthetic study of swinhoeisterol A, a novel steroid with an unusual carbon skeleton

Chapter 4. Conclusion

1. 序論

がんは高齢化した先進国における主な死因となっている。WHO によると、2018 年には世界で 960 万人ががんで死亡すると予測され、日本においても年間死者数は 37 万人に上る。その実情からこれまでに例えば、アメリカでは 120 兆円もの公的研究資金がつけ込まれている。しかしながらがん死亡者数は増加の一途を辿り、現在でも科学分野においてがん撲滅は最重要課題に位置づけられている。そこで本研究では、新規抗がん剤リード化合物創製の足掛かりとすべく、海洋生物由来の細胞毒性化合物に関する研究を行うこととした。本研究では、アプリロニン A とスウィンホエイステロール A を標的化合物として、合成と構造活性相関研究に着手した。

2. アプリロニン A-スウィンホライド A ハイブリッド化合物の設計・合成・活性評価

2-1. アプリロニン A とスウィンホライド A

アプリロニン A (1)¹ は海洋軟体動物アメフラシから単離された 24 員環マクロライドであり、細胞毒性、抗腫瘍活性、アクチン脱重合活性を示す (Figure 1)。当研究室の先行研究から、抗腫瘍活性の作用機序は新規であり、側鎖部がアクチンと結合した後に、マクロラクトン部のトリメチルセリンエステルを介してチューブリンと結合し、三元複合体を形成することによって示されている²。そこで、アプリロニン A の構造活性相関研究として、アプリロニン A (1) のマクロラクトン部とスウィンホライド A (2) の側鎖部を組み合わせたハイブリッド化合物 3 を設計した。スウィンホライド A (2) は、沖縄産海綿より単離された 44 員環二量体マクロライドであり、側鎖部がアクチンと結合することが報告されている。アクチン脱重合活性はアプリロニン A と同等で、側鎖部構造はアプリロニン A と比べて比較的単純である。アプリロニン A は当研究室により全合成

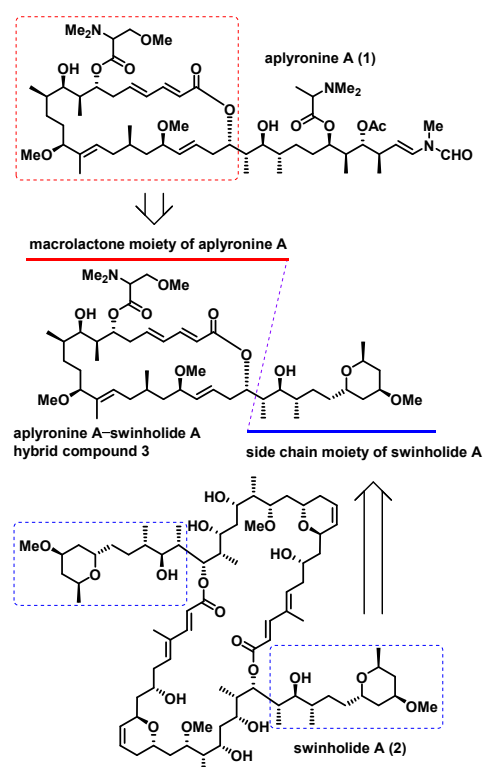
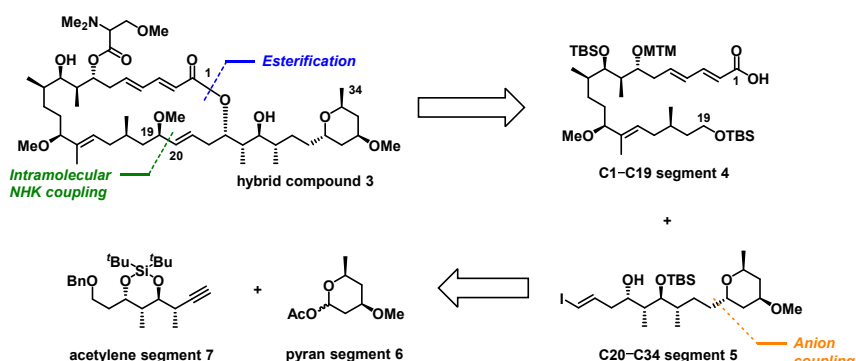


Figure 1. Aplyronine A-swinholidide A hybrid compound

が既に達成されているが、複雑な構造故に全 86 工程と長い。本格的な構造活性相関研究を行うためには、まず構造簡略化した化合物の創出が求められる。本化合物はアプリロニン A の特異な作用機序を保持する構造簡略体になると考えた。

2-2. 合成計画

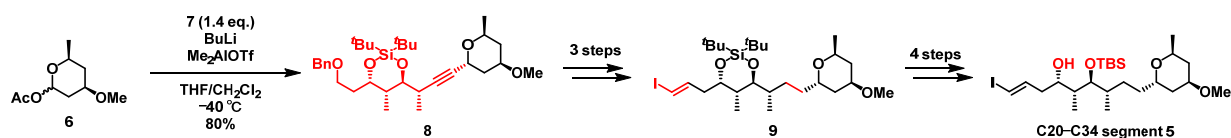
ハイブリッド化合物 **3** は、C1–C19 セグメント **4** と C20–C34 セグメント **5** をエステル化の後 NHK カップリングを行うことで得られると考えた (Scheme 1)。C1–C19 セグメント **4** は既存の合成法³に従って調製し、C20–C34 セグメント **5** は、ピランセグメント **6** とアセチレンセグメント **7** のカップリング反応を行い入手できると期待した。



Scheme 1. Synthetic strategy

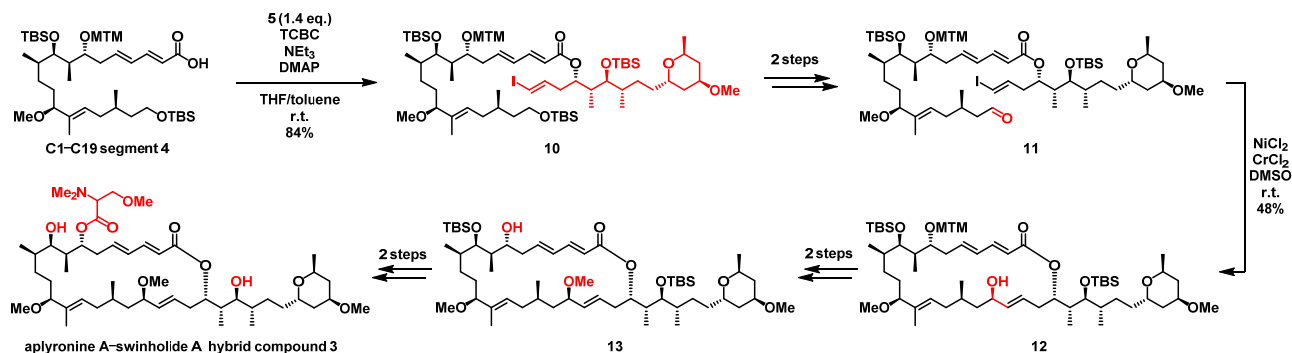
2-3. アプリロニン A–スウィンホライド A ハイブリッド化合物の合成

谷野・宮下らの報告⁴を参考に、ルイス酸として Me_2AlOTf を用い、**6** と **7** のカップリング反応を行った (Scheme 2)。得られた **8** の水素添加、Dess–Martin 酸化、高井反応によりヨードオレフィン **9** へと導いた。このものに対して、4 工程の保護基の変換を経て C20–C34 セグメント **5** を調製した。



Scheme 2. Synthesis of C20–C34 segment

別途調製した C1–C19 セグメント **4** と **5** とのエステル化は良好な収率で **10** を与えた (Scheme 3)。次いで、第一級の TBS 基の除去と酸化の後、分子内 NHK カップリングを実施しマクロラクトン環を構築した。生じた第 2 級水酸基をメチル化し、MTM 基を除去した後トリメチルセリンと縮合した。最後に TBS 基を除去してハイブリッド化合物 **3** の合成を完了した。



Scheme 3. synthesis of aplyronine A–swinholid A hybrid compound 3.

2-4. 活性評価

今回、トリメチルセリンが欠損した天然物、アプリロニン C (**14**) に対応するハイブリッド化合物 **15** も合成し、活性評価した (Figure 2)。前述のとおり細胞毒性にはトリメチルセリンが重要な官能基として働いているため、アプリロニン C はアプリロニン A と比べて活性が顕著に弱いことが知られている。評価の結果、ハイブリッド化合物 **3** は、アプリロニン A と同様に強力な活性を示した。一方でハイブリ

ッド化合物 **15** は **3** と比べて活性が大きく低下し、ハイブリッド化合物の作用機序が天然物と同一であると確認できた。アプリロニン A の合成と比較して、ハイブリッド化合物 **3** の合成は 16 工程少なく、アプリロニン A の作用機序を保持しつつも構造簡略化した化合物の創製に成功した。今後は、合成が容易になったアプリロニン A-スウィンホライド A ハイブリッド化合物 **3** をもとに、更なる構造活性相関

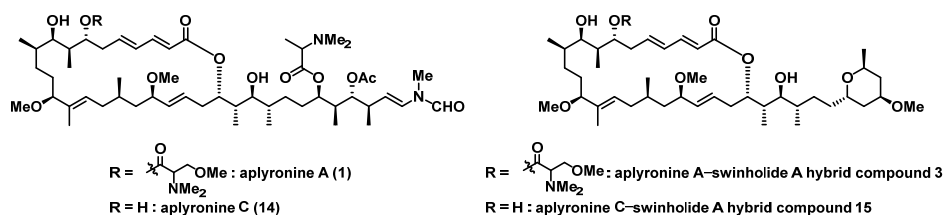


Figure 2. Cytotoxicity of hybrids between aplyronines and swinhoide A

| compound | cytotoxicity against HeLa S3 IC ₅₀ (nM) | total steps |
|----------|--|-------------|
| 1 | 0.01 | 86 |
| 14 | 10 | — |
| 3 | 0.17 | 70 |
| 15 | 15000 | — |

研究を行う予定である。

3. スウィンホエイステロール A の合成研究

3-1. スウィンホエイステロール A

スウィンホエイステロール A (**16**) は、2014 年に南シナ海産海綿より単離された新規ステロールである (Figure 3)⁵。スウィンホエイステロール類は現在までに 6 化合物の単離報告があり^{5,6}、これらの構造的特徴として、通常の 6/6/6/5 ステロイド骨格が転位したと推定される、前例のない 6/6/5/7 の 4 環性骨格を有する。スウィンホエイステロール A (**16**) は、化合物群の中でヒストンアセチル転移酵素 h(p300) に対して一番強い阻害活性を示し、構造と活性の両面において興味深い化合物である。この構造活性相関研究を進展させるためには効率的な合成ルートの確立が課題となる。そこで、本天然化合物の合成を手がける前に、側鎖部を除去したラセミモデル化合物 **17** を設定し、骨格構築法の確立を目指した。

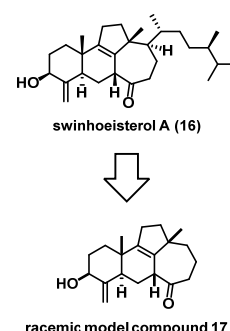
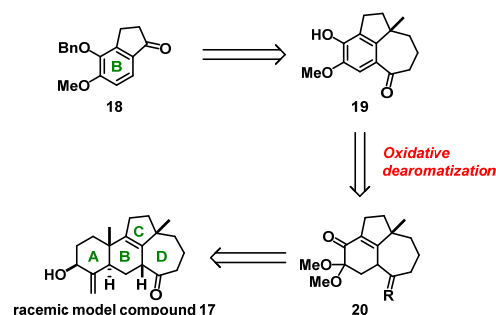


Figure 3. Swinhoesterol A (**16**) and the model compound **17**

3-2. 合成計画

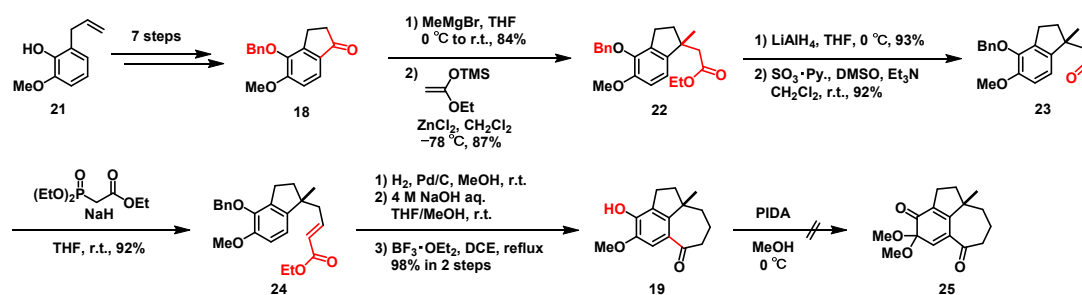
様々な類縁体を調製できることを念頭に、合成ルートを計画した (Scheme 4)。B 環部にはベンゼン環を用い、CD 環をベンゼン環の特性を活かして効率よく構築できると期待した。CD 環構築後の脱芳香環化により、望みの三環性化合物 **20** が得られると想定される。このように考え、インダノン **18** から合成を出発した。最終的に A 環部を合成終盤に増炭することでモデル化合物 **17** に導かれる。また天然物の場合、対応する三環性化合物 **19** 以前の段階で側鎖部を導入できれば、その後はモデル化合物と同様の経路を適用して全合成へとつながる。



Scheme 4. Synthetic strategy of model compound

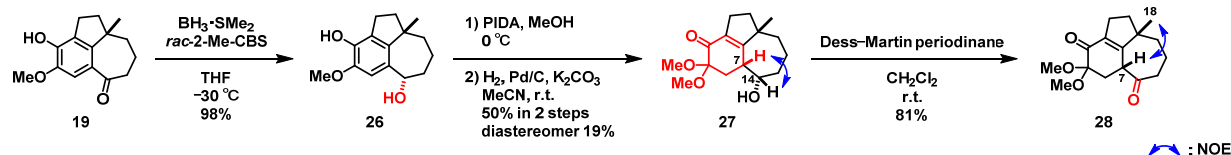
3-3. モデル化合物の BCD 環構築

インダノン **18** は、市販の *o*-オイゲノール (**21**) から 7 工程で誘導した (Scheme 5)。18 をメチル化した後、得られた第三級ベンジルアルコールに対してルイス酸とケテンシリルアセタールを作用させ、第 4 級炭素とした。続いて酸化段階を調節し、Horner-Wadsworth-Emmons 反応により二炭素増炭した。水素添加、加水分解、Friedel-Crafts 反応を順次行って D 環を収率良く構築した。ここで B 環の酸化的脱芳香環化を試みたが、生成物である *o*-キノンモノアセタールが不安定であったため基質の分解が確認された。



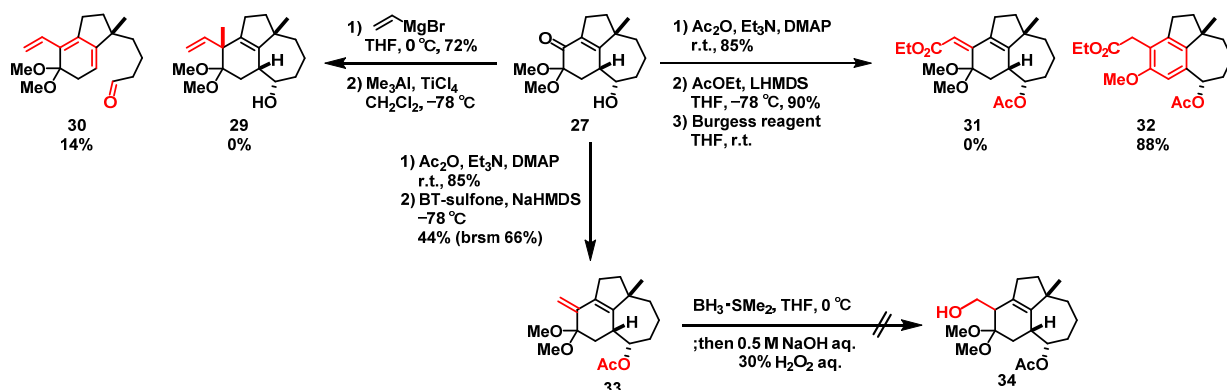
Scheme 5. Synthesis of tricyclic compound

o-キノンモノアセタール **25** が不安定な理由は共役ジエン系の電子密度が著しく低いためであると考え、カルボニル基を還元しアルコール **26** を得た (Scheme 6)。このものを酸化的脱芳香環化の条件に附すと良好に反応が進行した。その後、精製せずに位置選択的な二重結合の還元を行ったところ、望みの立体化学を有する **27** とそのジアステレオマーがそれぞれ二段階収率 50%と 19%で生じた。相対立体化学は、 α, α -ジメトキシエノン **27** ならびに酸化によって得られたジケトン **28** の NOE を測定し決定した。



Scheme 6. Construction of the model compound with the BCD rings

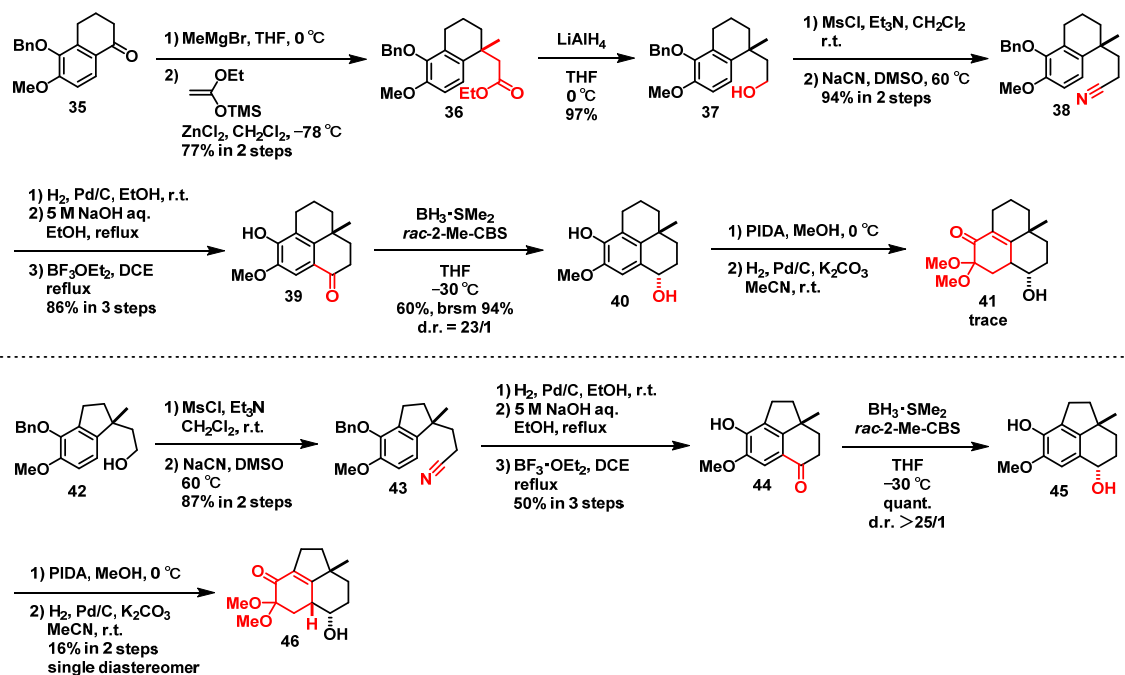
α, α -ジメトキシエノン **27** にビニルグリニャール試薬を作用させ、生じた第三級ダブルアリルアルコールに対してメチル化を試みたが、Groeb 型開裂が進行したアルデヒド **30** のみを確認した (Scheme 7)。アセチル化の後、アルドール反応と脱水を試みると、芳香環化した **32** を与える結果となった。また、改良型 Julia カップリングは所望のエキシメチレン **33** を中程度の収率ながら得ることができたが、その後のヒドロホウ素化で基質が分解した。現在はさらなる A 環構築の検討を行っている。



Scheme 7. Transformation for introduction of A ring

3-4. 他の縮環化合物への応用

化合物 **27** のような環システムは天然物にいくらか存在するが、その合成経路はあまり研究されていない。上述の合成戦略を利用し、様々な縮環化合物に対しての応用性を調査した。具体的には 6/6/6 と 6/5/6 の三環性化合物の合成を検討した。テトラロン **35** は *o*-オイゲノールから既知の 6 工程で導いた (Scheme 8)。テトラロン **35** に対する 3 工程の変換によりアルコール **36** とした。メシル化した後、NaCN を作用させ増炭した。ニトリルの加水分解を含む 3 工程で三環性化合物 **39** を合成した。先と同様に CBS 還元、脱芳香環化、水素添加を行ったが、目的の 6/6/6 化合物 **41** は痕跡量のみしか得られず、Diels–Alder 付加体が低収率で確認された。一方で、6/5/6 環システムの場合、同一の合成戦略により、低収率ではあるが、化合物 **46** が単一ジアステレオマーとして 16%で生成した。これらの結果から、酸化的脱芳香環化と水素添加の際に環構造が大きな影響を与えることが分かった。



Scheme 8. Transformation for introduction of A ring

4. まとめ

本研究では、アプリロニン A とスウィンホエイステロール A を標的化合物として取り上げた。抗腫瘍性マクロライドであるアプリロニン A は、構造が複雑であるが故に合成工程数が長いことから、構造簡略化を目指して構造活性研究を行った。アプリロニン A のマクロラクトン部とスウィンホライド A の側鎖部を組み合わせたハイブリッド化合物を設計・合成した。調製したハイブリッド化合物は、天然物と同様の作用機序により強力な細胞毒性を示した。本ハイブリッド化合物の開発で、全合成工程数 16 段階削減した人工類縁体を創出できた。また、スウィンホエイステロール A は前例のない 6/6/5/7 骨格を有する新規ステロールであり、興味深い生物活性を有する。ベンゼン環の化学を基軸とした合成戦略を立て、モデル化合物において BCD 環を構築した。

5. 参考文献

- 1) (a) Yamada, K.; Ojika, M.; Ishigaki, T.; Yoshida, Y.; Ekimoto, H.; Arakawa, M. *J. Am. Chem. Soc.* **993**, 115, 11020. (b) Yamada, K.; Ojika, M.; Kigoshi, H.; Suenaga, K. *Nat. Prod. Rep.* **2009**, 26, 27.
- 2) Kita, M.; Hirayama, Y.; Yoneda, K.; Yamagishi, K.; Chinen, T.; Usui, T.; Sumiya, E.; Uesugi, M.; Kigoshi, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 18089.
- 3) Kobayashi, K.; Fujii, Y.; Hayakawa, I.; Kigoshi, H. *Org. Lett.* **2011**, 13, 900.
- 4) Nakamura, R.; Tanino, K.; Miyashita, M. *Org. Lett.* **2005**, 7, 2929.
- 5) Gong, J.; Jiang, N.; Riccio, R.; Lauro, G.; Bifulco, G.; Li, T.; Gerwick, W. H.; Zhang, W. *Org. Lett.* **2014**, 16, 2224.
- 6) Li, J.; Tang, H.; Kurtan, T.; Mandi, A.; Zhuang, Chun-L.; Su, L.; Zheng, Gui-L.; Zhang, W. *J. Nat. Prod.* **2018**, 81, 1645.
- 7) Suzuki, T.; Sasaki, A.; Egashira, N.; Kobayashi, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, 50, 9177.

6. 発表論文

- 1) Ohyoshi, T.; Takano, A.; Namiki, M.; Ogura, T.; Miyazaki, Y.; Ebihara, Y.; Takeno, K.; Hayakawa, I.; Kigoshi, H. *Chem. Commun.* **2018**, 54, 9537.
- 2) Takano, A.; Zhao, Y.; Ohyoshi, T.; Kigoshi, H. *Tetrahedron Lett.* **2019**, in press.